

Mesure des compartiments liquidiens corporels chez des bovins de l'ouest-africain

Méthodes et résultats

P. PICART, H. CALVET

avec la collaboration technique de M. DIOP

RÉSUMÉ

Par une méthode de détermination simultanée à l'aide de traceurs chimiques (antipyrine, sulfocyanure de sodium, Bleu Evans) l'eau totale, l'eau extracellulaire, le volume plasmatique et le volume sanguin des mâles de 3 à 4 ans de trois troupeaux ouest-africains ont été mesurés. Les animaux testés sont 10 zébus Gobra de Dara en zone nord-soudanienne, 17 métis zébu-taurin (Djokhé) à prédominance taurin N'Dama de Sangalkam en zone sub-canarienne-sud ; 13 taurins N'Dama de Bouaké en climat équatorial (zone baouléenne). On rapporte les espaces mesurés au poids des animaux : l'eau totale, l'eau extracellulaire, l'eau intracellulaire du troupeau de N'Damas sont significativement supérieures à celles du troupeau de métis. Le troupeau de N'Damas diffère aussi des Zébus et métis par un volume plasmatique significativement plus élevé. Si on rapporte les volumes trouvés à celui de l'eau totale, toutes les différences disparaissent et on peut donner les équations générales de régression des divers compartiments par rapport à l'eau totale. Il n'y a pas de différence dans la répartition de l'eau dans les compartiments suivant les climats ou les races. Les différences notées sont liées à l'état d'engraissement des animaux.

L'eau constitue le composant simple le plus important des êtres vivants et l'un des principaux éléments de leur régime. Elle représente chez les mammifères entre 50 et 75 p. 100 du poids du corps, le facteur principal de variation de ce pourcentage résidant dans la teneur en graisses de l'organisme. Sa distribution normale à l'intérieur du corps est moins connue. Depuis Claude BERNARD, on tend à représenter « un organisme complexe... comme une réunion d'êtres simples qui sont les éléments anatomiques et qui vivent dans le milieu liquide intérieur » (1878). On voit l'opposition qu'il y a entre le milieu extracellulaire, véhicule de transport des constituants de la matière vivante mettant en communication les cellules avec l'extérieur et le liquide intracellulaire, support des processus

métaboliques. Le développement de procédés simples et sûrs pour la détermination *in vivo* du volume des diverses phases fluides du corps a permis de séparer à côté du liquide intracellulaire, l'eau extracellulaire en eau du plasma sanguin et eau interstitielle. L'ensemble de ces compartiments constitue l'eau totale du corps.

Ce sont ces compartiments dont nous avons tenté de mesurer le volume chez les bovins de l'Ouest-Africain.

Avant de donner les résultats obtenus sur les animaux de trois troupeaux testés (10 zébus gobra blancs du Centre de Recherches zootechniques de Dara-Djolof (Sénégal) *, 13 taurins de race Ndama du Centre de Recherches de

* Dara (15°32' W — 15°20' N)

Minankro ** (Côte-d'Ivoire), 17 taurins *** de la ferme du Laboratoire national de l'Elevage et de Recherches vétérinaires, à Sangalkam **** (Sénégal), nous allons donner la méthode suivie dans ces déterminations.

I. — MÉTHODE DE DÉTERMINATION DES COMPARTIMENTS HYDRIQUES

Toutes les mesures *in vivo* sont fondées sur le principe de la dilution d'une substance traceuse. Ce principe est simple et nous empruntons sa définition à HAXHE (1964) : « Si une quantité Q d'une substance indicatrice quelconque est introduite dans un système clos et que cette substance se distribue uniformément pour atteindre un équilibre, le volume total V du système peut se calculer à partir de la concentration finale C ». En effet, $Q = CV$. Cette définition implique que l'indicateur se répartisse uniformément dans le compartiment liquidien (appelé aussi *espace de diffusion* de cet indicateur), qu'il atteigne un équilibre, ceci supposant qu'il ne puisse être détruit ou formé dans l'organisme et qu'on puisse connaître la quantité excrétée ou perdue pendant la période d'équilibre.

Les traceurs sont de deux ordres principaux : traceurs chimiques où l'indicateur est une molécule ou un ion, dosé par une de ses réactions caractéristiques, traceurs radioactifs dont la concentration est évaluée par la mesure de leur activité. La faveur est actuellement donnée aux seconds pour leur utilisation facile, mais qui nécessite l'emploi d'un matériel onéreux et fragile. Dans certains cas (prospection par laboratoire mobile loin des centres équipés) la méthode des traceurs chimiques reste seule applicable. C'est celle que nous avons utilisée dans cette enquête.

A. — CHOIX DES TRACEURS

Aa) Eau totale.

Les mesures de l'eau totale emploient généralement pour traceur soit l'antipyrine (SOBERMAN, 1949-1950) ou un de ses dérivés (N-acétyl-amino-antipyrine, HUCKABEE, 1956, 4-iodo-

antipyrine [131, TALSO 1955), soit l'eau marquée au deutérium ou au tritium. Certains auteurs ont employé l'éthanol (TILL et DOWNES, 1962-PAWAN et HOULT, 1963) ou l'urée (MARSHALL et DAVIS, 1914-DALTON, chez les veaux, 1964, BANERJEE et BHATTACHARSEE, en 1963, chez le chameau). Ces méthodes présentent quelques difficultés pour le dosage, ainsi que pour la conservation des prélèvements avant l'analyse.

Les raisons déjà exposées nous obligeant à employer un traceur chimique, la N-acétyl-4-aminoantipyrine, qui offre l'avantage de mesurer plus fidèlement l'eau totale que l'antipyrine car elle pénètre peu dans le tube digestif (REID et Coll. 1957), mais beaucoup trop onéreuse pour les dosages en grande série, devant être écartée, notre choix s'est porté sur l'antipyrine.

L'antipyrine est assez rapidement métabolisée dans l'organisme des bovins (REID, 1957). Nous avons pu vérifier que le pourcentage moyen de la disparition horaire est de 32 p. 100 pendant la seconde heure pour les taurins et de 20,2 p. 100 pour les zébus, passant respectivement à 32,1 et 21,4 p. 100 au cours de la troisième heure (moyennes de 10 animaux). Cette différence dans la vitesse d'élimination entre les deux espèces n'est pas expliquée.

L'antipyrine se dilue, chez l'homme, dans le même espace que l'eau tritiée ou marquée au deutérium (SOBERMAN et coll., 1949). Nous avons tenté de vérifier la validité de cette méthode chez les bovins en comparant les espaces de dilution de l'urée et de l'antipyrine. On sait que l'urée, au moins chez le rat (MATHE, 1952) diffuse dans un espace inférieur à celui de l'eau totale mesurée par dessiccation (différence de l'ordre de 10,5 p. 100). Huit mesures simultanées ont été faites qui ont donné les résultats suivants :

	Urée	Antipyrine	Différence	p. 100
	en litres			
Taurins	64,2	72,1	7,9	11,0
	75,2	91,6	16,4	17,9
	56,1	63,9	7,8	12,2
	68,3	71,2	2,9	4,1
Zébus	133,0	139,0	6,0	4,3
	123,7	130,9	7,2	5,5
	133,6	135,5	1,9	1,4
	121,8	131,5	9,7	7,4

** Minankro (4°58' W — 5°08' N) près de Bouaké

*** Djokhé, métis zébu x taurin à prédominance taurin Ndama.

**** Sangalkam (17°13' W — 14°46' N) près de Dakar.

On voit immédiatement que l'antipyrine donne systématiquement des résultats supérieurs à ceux de l'urée mais que les espaces de diffusion des deux substances restent comparables. Sans pouvoir le vérifier, nous pensons que les résultats de SOBERMAN se retrouvent chez les bovins.

GARRETT et coll. (1959) ont critiqué l'emploi de ce traceur qui donne des résultats discordants lorsqu'on répète les expériences. Ils attribuent cela à la grande capacité du réservoir gastrique des ruminants. Peut-être peut-on ajouter à cela le phénomène découvert par FOWLER (1955) quant aux larges fluctuations périodiques du contenu hydrique corporel.

Nous n'avons pas trouvé de grandes distorsions dans nos essais de reproductibilité. Les différences sont au maximum de l'ordre de ± 5 p. 100 du volume d'eau déterminé, valeur également trouvée par BLAXTER et ROOK (1956) et KEYS et BROZEK (1953). Ainsi qu'on le verra par la suite, la limite de confiance à 95 p. 100 du pourcentage de l'eau totale par rapport au poids des trois populations bovines étudiées est compris entre 6,3 p. 100 (Sangalkam) et 10,3 p. 100 (Dara). Si on prend comme valeur moyenne du pourcentage d'eau totale par rapport au poids la valeur 60 p. 100, l'erreur faite sur sa détermination serait de $5 \times 0,6 = 3$ p. 100. Si on supprime cette erreur on ramène donc grossièrement la limite de confiance entre 3 et 7 p. 100. Or il s'agit de pourcentages calculés dans une population dont la ligne de régression eau totale/poids ne passe pas par l'origine, les rapports supérieurs à la moyenne étant systématiquement augmentés et les rapports inférieurs systématiquement abaissés. Cela crée une distorsion supplémentaire qui augmente l'écart type. La part de variation due aux fluctuations propres de la population deviendrait ainsi très réduite : sans correction aucune le coefficient du pourcentage d'eau totale par rapport au poids est de 6,1 p. 100 pour Bouaké, 5,6 p. 100 pour Sangalkam et 7,6 p. 100 pour Dara. Ces valeurs faibles nous incitent à penser que la variabilité due à la méthode doit être bien inférieure aux valeurs indiquées ci-dessus et que les différences trouvées par les différents auteurs tiennent beaucoup plus à la variabilité des animaux testés qu'à un défaut de rigueur de la méthode employée.

Ab) Eau extracellulaire.

S'il est aisé de définir les liquides extracellulaires comme l'ensemble des liquides non inclus dans une cellule, il est plus difficile de trouver un traceur qui soit de diffusion rapide dans tous les compartiments de ces liquides extracellulaires (eau plasmatique, interstitielle, du tissu conjonctif, des os et cartilages et des sérosités), qui ne pénètre pas dans la cellule et se répartisse uniformément. On a tendance actuellement à prendre pour espace extracellulaire le volume de diffusion de l'ion chlore qui pénètre très peu dans la cellule. Ainsi HAXHE (1964) considère, par convention, que le liquide extracellulaire correspond à l'espace du chlore, corrigé pour sa teneur dans les globules rouges. La nécessité d'employer un traceur chimique nous a fait essayer le mannitol et l'inuline qui ont donné des résultats très inconstants et parfaitement non reproductibles. D'autre part, l'emploi de ces grosses molécules amène à une sous-estimation du volume extracellulaire, leur diffusion dans l'eau du tissu conjonctif du muscle, du tendon et du tissu sous-cutané (COTLOVE, 1954) étant très faible. Ces traceurs ont donc été abandonnés. L'ion thiocyanate a ensuite été choisi, suivant les travaux de CRANDALL et ANDERSON (1934), bien qu'il pénètre dans certaines cellules (globules rouges, cellules de la muqueuse gastrique) et qu'il soit éliminé par voie digestive, ce qui oblige à employer, pour la détermination du volume de diffusion, la méthode d'extrapolation à l'origine de CACHERA et LAMOTTE (1950).

Il a pu, d'autre part, être établi sur nos animaux que l'espace de diffusion de l'ion thiocyanate augmente beaucoup dans les états pathologiques graves. Il semble donc que dans certains cas, la perméabilité cellulaire augmente pour cet ion. OVERMAN (1946) avait déjà noté ce fait.

L'élimination de l'ion SCN^- est assez lente. Sa disparition horaire est de 9,1 p. 100 en moyenne pendant la deuxième heure et de 13,9 p. 100 pendant la troisième heure pour les taurins et de 8,5 et 10,7 p. 100 pour les zébus. On ne retrouve pas, pour le sulfocyanure, la différence notée pour l'antipyrine.

La comparaison du volume de diffusion du thiocyanate et du chlore n'a pu être encore

faite (en mesurant le volume du chlore à l'aide du brome) faute de méthode sûre de dosage de l'ion Br^- dans les liquides biologiques.

La reproductibilité est bonne, les différences étant de l'ordre de 7 p. 100, donc un peu plus élevées que pour l'antipyrine. Les limites de confiance à 95 p. 100 des diverses populations bovines restent étroites : 7,3 p. 100 du poids du corps à Sangalkam, 7,6 p. 100 à Bouaké, 6,4 p. 100 à Dara. Ce traceur peut donc être employé avec quelques assurances de sécurité et, bien qu'il traduise un volume physiologique dont la nature n'est pas bien précisée, doit permettre des comparaisons valables.

Ac) Eau plasmatique.

Pour déterminer le volume plasmatique, en dehors des protéines marquées à l'iode 131, il est généralement fait appel à des colorants qui se fixent sur les protéines plasmatiques : bleu Evans (T-1824) (RAWSON, 1943), bleu Chicago 6 B (CACHERA et BARBIER, 1942) ou à de grosses molécules polymérisées qui ne quittent pas le torrent circulatoire (Subtosan : POUL-LAIN et PIETTE 1948 ; Dextran : SEMPLE, 1956). Ces derniers composés présentent le danger d'avoir des molécules de taille variable et de ce fait un dosage qui n'est pas toujours très exact. Nous avons choisi la méthode au bleu de Evans dont la reproductibilité est bonne si on emploie la méthode d'extrapolation, la disparition du colorant par fixation par le SRE, spécialement dans le foie, étant assez rapide (GREGERSEN et RAWSON, 1943 ; BERNICK et coll., 1955 ; GREVE et HAMILTON, 1957). Employé ainsi, le bleu de Evans est en bonne concordance avec les résultats donnés par les protéines marquées (CRISPELL et coll., 1950 ; ANDERSEN, 1962 ; HUGGINS et coll., 1963).

B. — MÉTHODE D'EXTRAPOLATION

Il a été signalé précédemment que l'antipyrine est métabolisée dans l'organisme des bovins et que l'ion SCN^- est excrété par l'urine et par les cellules muqueuses du tube digestif. Ces deux faits sont en contradiction avec les conditions de l'équilibre dans les compartiments liquidiens énoncées en début de chapitre. Pour tourner cela CACHERA et BARBIER (1941 a et b) ont proposé de construire la courbe théorique

d'élimination du traceur choisi de façon à pouvoir déterminer le taux virtuel qu'il aurait atteint si la diffusion avait été immédiate ou l'élimination nulle. Si l'on examine la courbe des taux plasmatiques successifs d'une substance quelconque après son administration, obtenue en plaçant en ordonnée les concentrations et en abscisse les temps, on voit que la courbe est constituée de deux parties : la première à pente rapide est la période de diffusion, la seconde, période d'élimination d'allure exponentielle se traduisant par une droite en coordonnées semi-logarithmiques. Si on prolonge ce segment rectiligne jusqu'à l'axe des ordonnées, le point de rencontre de la droite extrapolée avec cet axe « fournit la valeur idéale de la concentration telle qu'elle apparaîtrait si la diffusion du produit était instantanée au moment de l'injection » (CACHERA et BARBIER, 1941 a). Cette concentration C virtuelle est introduite dans la formule $Q = CV$. Connaissant Q (quantité de produit injecté) on en déduit V = volume de diffusion de la substance. La droite semi-logarithmique est déterminée à partir des données par le calcul suivant la méthode des moindres carrés (MORICE et CHARTIER, 1954).

C. — VOLUME GLOBULAIRE

Le volume globulaire ne pouvant être déterminé par traceurs chimiques mais seulement par traceurs radioactifs, nous avons employé l'hématocrite veineux pour sa détermination. Il n'est pas fait de correction pour le plasma inclus entre les globules rouges car cette correction, calculée pour l'homme (MAYERSON et coll., 1948 ; GREGERSEN, 1951) ne l'est pas pour les bovins. HODGETTS (1959) ne croit pas que cette correction soit nécessaire. D'autre part, l'hématocrite somatique est plus faible que l'hématocrite veineux (NACHMAN et coll., 1950). Ces deux faits tendent à surestimer le volume globulaire. La recherche des facteurs de correction sera menée ultérieurement.

D. — PRATIQUES DES MESURES

Da) Préparation de l'animal.

L'animal est maintenu à jeûn pendant 12 heures avant le début de l'épreuve. Après dénudation

de la jugulaire, un cathéter en polyéthylène muni d'un mandrin de même matière est introduit dans la veine à l'aide d'un trocard. Le cathéter est maintenu en place par suture à la peau ; l'incision de dénudation est refermée par quelques points. Il peut être utile d'injecter par le cathéter 1 ml d'héparine pour éviter la formation d'un manchon de fibrine dans la veine autour du tube ce qui a pour effet de l'obstruer.

Db) Injection.

Au temps $t = 0$, on introduit rapidement par le cathéter la solution suivante :

antipyrine 15 g
(SCN) Na 25 g
T 1824 0,250 g
eau distillée stérile q. s. p. 250 ml
à raison de 0,4 ml par kilo de poids de l'animal.

Auparavant, il y aura lieu de procéder au prélèvement du sang témoin. L'injection de la solution sera faite avec une seringue étalonnée avec précision par pesée.

Dc) Prélèvements.

Les prélèvements sont effectués à la seringue par l'intermédiaire du cathéter. On prélève environ 25 ml de sang qui est versé dans un tube contenant quelques mg d'héparine sèche. Le tube est rapidement bouché et retourné.

Temps de prélèvement :

Prélèvement témoin : T = avant le temps $t = 0$, puis prélèvement à chacun des temps suivants : + 10, + 15, + 20, + 60, + 75, + 90, + 120, + 135, + 150, + 180 minutes.

Dd) Dosages.

Le sang est centrifugé 5 minutes à 5.000 tours/minute. Les dosages sont effectués sur le plasma décanté.

1. — Bleu de Evans (T-1824).

Le dosage du bleu de Evans après extraction à l'acétone suivant la technique indiquée par CHINARD et EDER (1948) pour diminuer les erreurs dues à une hémolyse ou une lipémie possibles ne présente pas de difficulté particulière.

Le dosage est fait sur les trois premiers prélèvements. Le tube T, servant de blanc, contient 2 ml de plasma du prélèvement T. La solution

injectée, diluée au 1/20 est dosée dans les mêmes conditions.

Tube	T	D1	D2	D3	I
Plasma T	2				
Plasmas 1		2			
2			2		
3				2	
Sérum physiologique...	0,5	0,5	0,5	0,5	
Solution injectée au 1/20					0,5
Acétone.....	5	5	5	5	5

On agite le tube bouché et on filtre rapidement sur papier. Lecture à 607 m μ .

Suivant la technique de BRODIE (1949) la détermination de l'antipyrine par formation de nitroso-antipyrine qui absorbe fortement la lumière dans le proche U. V. (342 m μ , DUMONT, 1955) ne pose pas non plus de difficultés particulières une fois obtenue l'élimination du bleu de Evans du filtrat de défécation sur lequel on opère. Celle-ci est obtenue par adsorption du bleu de Evans (déjà en partie adsorbé sur les protéines plasmatiques) sur le précipité d'hydroxyde de zinc obtenu lors de la défécation zincique que nous employons.

Il semble seulement nécessaire d'insister sur la pureté de l'eau servant à l'analyse : des traces de cuivre (catalyseur d'oxydation) amènent une destruction très rapide de la nitroso-antipyrine et rendent impossible la lecture de la coloration. Une eau distillée en appareil Pyrex après passage sur résine assure une stabilité suffisante de la coloration.

2) Défécation.

La liqueur provenant de la défécation servira au dosage de l'antipyrine et du sulfocyanure de sodium.

Réactifs :

Solution A : (SO₄Zn, 7 OH₂) 100 g
(SO₄H₂ 6 N) 40 ml
(eau distillée q. s. p.) ... 1.000 ml
Solution B : NaOH 0,75 N.

La solution B doit neutraliser volume à volume la solution A.

Défécation du Plasma.

Dans un tube à centrifuger de 30 ml, placer :

Plasma	5 ml
Eau distillée	5 ml
verser goutte à goutte en agitant :	
solution A	5 ml
verser goutte à goutte en agitant :	
solution B	5 ml

Laisser reposer 30 minutes en agitant par intervalles. Centrifuger. Décanter (filtrer si nécessaire).

Défécation de la Solution injectée.

On élimine le colorant T-1824 par une défécation zincique.

a) diluer la solution initiale au 1/100.

b) placer dans un tube à centrifuger :

solution diluée au 1/100	5 ml
solution A	5 ml
solution B	5 ml

c) centrifuger et decanter.

d) prendre 5 ml de liquide decanté et l'amener à 100 ml. On a une solution correspondant à une dilution à 1/6.000 de la solution initiale et débarrassée du bleu Evans.

2-b) Dosage.

Il est fait sur les prélèvements 4 à 10.

Réactifs :

nitrite de sodium à 0,2 p. 100.

SO_4H_2 , 4 N.

Opération.

Dans un tube à essai, on place :

— liquide de défécation	3 ml
— acide sulfurique 4 N	0,1 ml
— nitrite de Na 2 p. 100	0,2 ml

Agiter. Faire la lecture 35 minutes après l'addition de nitrite. Elle se fait contre un blanc obtenu avec le liquide de défécation du plasma du tube T à une longueur d'onde de 342 m μ .

Solution injectée.

Prendre 3 ml de la dilution au 1/6.000 obtenue après défécation et agir comme pour le plasma. Lire contre un blanc à l'eau distillée traité de la même façon.

3. — Sulfocyanure de sodium.

Le dosage de l'ion $(\text{SCN})^-$ en présence d'antipyrine pose un autre problème : dans les con-

ditions normales de pH, l'antipyrine donne avec l'ion Fe^{3+} de la ferripyrrine rouge (λ d'absorption maxima 465 m μ) qui interfère avec la détermination colorimétrique du sulfocyanure ferrique $(\text{SCN})_3\text{Fe}$ dont la densité d'absorption maxima est de 460 m μ . Pour éviter cette interférence HIX et coll. (1959) extraient l'antipyrine par du chloroforme en milieu alcalin. Il est beaucoup plus simple, suivant une remarque que nous avons faite, d'empêcher la formation de ferripyrrine, qui n'est pas stable en milieu acide, par de l'acide trichloracétique.

Réactifs :

— acide trichloracétique à 20 p. 100.

— réactif de Schreiber (modifié par Crandall et Anderson).

$(\text{NO}_3)_3\text{Fe}$, 9 OH_2	50 g
NO_3H pur à 40 °B	18 ml
eau distillée q. s. p.	1.000 ml

Dosage.

Il se fait sur le même liquide de défécation que l'antipyrine.

Plasma : dans un tube à essais, placer :

liquide de défécation	2 ml
acide trichloracétique à 20 p. 100.	2 ml
réactif de Schreiber	0,5 ml

Agiter. Lire après 30 minutes à 460 m μ .

Le blanc sera obtenu de la même façon à partir du liquide de défécation du tube T.

Solution injectée.

2 ml de la dilution au 1/6.000 sont traités de la même façon. Lire contre un blanc préparé à partir de 2 ml d'eau distillée.

Gamme.

Dans le cas de dosage de $(\text{SCN})^-$ on est obligé de faire une gamme, la coloration ne suivant pas exactement la loi de Beer-Lambert et la droite d'étalonnage ne passant pas par l'origine (ce qui n'est pas le cas pour le T-1824 ou l'antipyrine). On part d'une solution normale de SCNK.

Diluer la solution N à 1/1.000 : placer 10 ml de solution N dans un ballon de 250 ml, compléter à l'eau distillée. Prélever 2,5 ml. Placer dans un ballon de 100 ml. Compléter à l'eau distillée.

Faire la gamme de la façon suivante :

Tube	0	1	2	3	4	5	6
Solution diluée au 1/1.000	0	0,5	1	1,5	2	2,5	3 ml
Eau distillée	8	7,5	7	6,5	6	5,5	5 ml

Prélever 2 ml dans chaque tube.

Ajouter : 2 ml d'acide trichloracétique.

0,5 ml de réactif de Schreiber.

Faire la lecture en prenant le tube 0 comme blanc. Longueur d'onde : 460 mμ.

4. — Hématocrite.

La valeur de l'hématocrite est obtenue dans un tube de Wintrobe où l'on place, aussitôt après le prélèvement, 1 ml de sang du tube T. Ce tube est placé dans un centrifugeur à vitesse constante (3.000 tours/minute) pendant au moins 45 minutes, la viscosité du plasma de bovins étant beaucoup plus forte que celle du plasma humain.

5. — Calculs.

a) Prendre le logarithme des densités optiques obtenues pour chaque tube. Reporter ces logarithmes sur un papier millimétré en fonction des heures exactes de prélèvement.

b) Déterminer à partir de quel prélèvement les points forment une droite (période de diffusion terminée). Généralement le tube n° 4 ($T = + 60$ mn) marque la fin de la période de diffusion et le début de la période d'élimination. Pour le bleu de Evans on fait le calcul pour les tubes n° 1, 2 et 3. Calculer alors la droite d'élimination ($\log_{10} DO = a - bT$) par la méthode des moindres carrés. Calculer le paramètre a de cette droite (obtenu en faisant $T = 0$). Remonter du logarithme ainsi obtenu à la densité optique correspondante qui sera la densité optique qu'on aurait obtenue si la diffusion avait été immédiate.

A partir de cette valeur, établir les calculs suivants : (la DO de la solution injectée est désignée par i , volume de la solution injectée désignée par V).

a) Bleu de Evans.

$$\frac{i \times 2 \times 20 \times V}{a \times 500} = \frac{i \times V}{a \times 12,5} = \text{volume plasmatique en litres.}$$

b) Antipyrine.

$$\frac{i \times V \times 1,5}{a} = \text{volume de diffusion de l'antipyrine en litres.}$$

c) Sulfocyanure de sodium.

Il faut déterminer a et i en fonction de la gamme faite en même temps que le dosage. On calcule la droite de la gamme en déterminant la droite de régression des densités optiques des tubes de la gamme sur le numéro de ces tubes (le tube 1 représente une unité de gamme, le tube 2, deux unités, etc...). Calculer la valeur de a et i en unités de gamme, soit A et I .

On a alors le même calcul :

$$\frac{I \times V \times 1,5}{A} = \text{volume de diffusion du sulfocyanure en litres.}$$

d) Volume sanguin.

Le volume sanguin est déterminé à partir de l'hématocrite (qui est lu directement sur le tube) et du volume plasmatique déterminé à l'aide du bleu de Evans. On a :

$$\text{Volume sanguin} = \frac{\text{Volume plasmatique} \times 100}{100 - \text{hématocrite}}$$

II. — RÉSULTATS DES MESURES SUR QUELQUES TROUPEAUX DE L'OUEST AFRICAIN

La méthode décrite ci-dessus a été appliquée en décembre 1965, janvier et février 1966 sur quelques troupeaux de l'Ouest-Africain ; en décembre 1965 sur le troupeau de race gobra (zébus) du Centre de Recherches zootechniques de Dara, au Sénégal, en janvier 1966, sur le troupeau de la ferme expérimentale du Laboratoire national de l'Élevage de Dakar, à Sangalkam, où le troupeau est constitué de taurins * « Djokhère » métis à prédominance Ndama et, enfin, en février 1966, sur le troupeau du Centre de Recherches zootechniques de Minankro, près de Bouaké en Côte-d'Ivoire, composé de taurins Ndama.

Notre dessein était de voir si des différences climatiques ou raciales pouvaient avoir une influence sur la quantité et la répartition de l'eau dans l'organisme des bovins. Afin d'éliminer d'autres facteurs de variation possibles : sexe ou

* Race sans bosse.

âge, qui sont très importants chez l'homme (MOORE et coll., 1963) et peuvent l'être chez les bovins, les animaux testés sont tous des animaux mâles de 3 à 4 ans.

Les stations choisies présentent selon HUBERT (1934) trois climats différents : climat sub-canarien pour Sangalkam, type nord soudanien pour Dara et sud soudanien pour Bouaké.

Les conditions de température et d'humidité ont été les suivantes dans les 15 jours qui ont précédé les essais :

	Dara	Sangal- kam	Bouaké	
Tempé- rature {	minimum moyen..	13,1 °C	15,9 °C	21,1 °C
	maximum moyen..	33,0 °C	29,1 °C	33,7 °C
	moyenne	23,1 °C	20,2 °C	27,0 °C
Humidité moyenne (p. 100) ..		32	65	43
Précipitations en mm		0	0	0

Pour exprimer les résultats obtenus, nous avons pris deux données de référence pour chaque animal : le poids du corps et le volume de l'eau totale. On trouve dans les tableaux l'ensemble des résultats obtenus pour chaque troupeau exprimés sous forme de rapports de corrélation et de droites de régression. L'emploi des pourcentages peut en effet fausser les résultats si la droite de régression volume mesuré/donnée de référence, ne passe pas par l'origine. Ils sont simplement indiqués pour les moyennes de chaque groupe.

Les troupeaux ont été également comparés par analyse de covariance (suivant SNEDECOR, 1956), les droites de régression dont le coefficient de pente est significatif étant comparé du point de vue de leur pente et de leur hauteur, et les populations qu'elles représentent comparées quant à leur variance.

(Tabl. I). Si l'on prend comme donnée de référence le poids de l'animal, l'eau totale, l'eau extracellulaire, l'eau intracellulaire et l'eau plasmatique, des troupeaux de Sangalkam et de Bouaké sont significativement différents.

Si on applique la formule de PACE et RATHBUN (1945) fondée sur l'hypothèse que les graisses corporelles sont anhydres et que les tissus dégraissés contiennent une quantité cons-

tante d'eau = 73,2 p. 100 chez l'homme, 72,6 p. 100 chez les bovins (KRAYBILL et coll., 1952), on peut calculer la quantité de graisses anhydres dans les différents troupeaux. On obtient 12,6 p. 100 à Bouaké, 16,1 p. 100 à Dara et 25,9 p. 100 à Sangalkam, ces données ayant été calculées sur les moyennes de chaque troupeau. En calculant suivant la formule de WELLINGTON et REID (1956) on obtient : 12,6 p. 100 à Bouaké, 15,4 p. 100 à Dara et 23,8 p. 100 à Sangalkam. La différence de pourcentage de graisses entre le troupeau de Sangalkam et les deux autres troupeaux n'est pas expliquée pour l'instant. Est-elle due à un facteur alimentaire, climatique ou au métissage ?

Une autre série de différences se remarque aussi : le troupeau de zébus a un espace plasmatique rapporté au poids significativement inférieur aux troupeaux de Ndama et métis taurins. Par contre, cette différence disparaît en ce qui concerne le volume sanguin, le troupeau de Dara ayant un hémocrite moyen supérieur.

	Dara	Bouaké	Sangalkam
Hématocrite moyen (suivi de son écart type)	45,5 ± 5,2	41,1 ± 2,7	43,1 ± 6,5

Le troupeau de zébus avec un volume plasmatique moyen de 2,7 p. 100 du poids corporel est différent également des données de la littérature : 3,1 p. 100 pour des Hereford (HOWES et Coll., 1963) et 3,7 p. 100 dans le Missouri (TURNER et HERMAN, 1931).

Si l'on prend l'eau totale comme terme de référence, toute différence disparaît entre les troupeaux pour les différents espaces (Tabl. II). Cela est dû au fait que l'eau totale est indépendante du principal facteur de variation du poids corporel, constitué par les graisses. Dans ces conditions on peut considérer l'ensemble des troupeaux comme une seule population et établir une équation générale pour la régression de chaque espèce.

Eau extracellulaire = $-1,3 + 0,606$ eau totale
 Eau intracellulaire = $1,3 + 0,394$ eau totale
 Eau plasmatique = $4,5 + 0,023$ eau totale
 Volume sanguin = $7,3 + 0,045$ eau totale.

TABLEAU N°I
 Comparaison des compartiments liquidiens au poids moyen du corps

	Nombre	Poids moyen	Volume en pourcentage du poids moyen	Coefficient de corrélation	Equation (x=poids de l'animal) $y - \bar{y} = b(x - \bar{x})$	Ecart type de b	Moyenne et limite de confiance à 95 p. 100
Volume eau totale							
Bouaké	13	217,7	63,5	0,83	- 0,41 + 0,637 x	0,130	138,3 ± 19,6
Dara	10	302,2	60,9	0,93	- 29,49 + 0,706 x	0,095	183,9 ± 31,9
Sangalkam	17	213,6	53,8	0,94	- 4,03 + 0,557 x	0,053	115,0 ± 13,9
Volume eau extra-cellulaire							
Bouaké	13	217,7	37,3	0,65	+ 13,47 + 0,311 x	0,109	81,2 ± 16,6
Dara	10	302,2	37,0	0,94	- 25,31 + 0,454 x	0,057	111,9 ± 19,3
Sangalkam	17	213,6	32,0	0,81	+ 0,69 + 0,317 x	0,059	68,4 ± 15,5
Volume eau intra-cellulaire							
Bouaké	13	217,7	26,2	0,55	- 13,88 + 0,326 x	0,082	57,1 ± 22,6
Dara	10	302,2	23,9	0,75	- 4,18 + 0,252 x	0,078	72,0 ± 26,3
Sangalkam	17	213,6	21,8	0,71	- 4,91 + 0,241 x	0,062	46,6 ± 16,1
Volume plasmatique							
Bouaké	13	217,7	3,8	0,60	- 2,07 + 0,047 x	0,019	8,2 ± 2,8
Dara	10	302,2	2,7	0,87	+ 0,35 + 0,026 x	0,005	8,2 ± 1,7
Sangalkam	17	213,6	3,3	0,56	+ 2,70 + 0,020 x	0,008	7,0 ± 2,0
Volume sanguin							
Bouaké	13	217,7	6,3	0,54	- 1,17 + 0,069 x	0,032	13,8 ± 4,8
Dara	10	302,2	5,0	0,80	+ 1,62 + 0,045 x	0,011	15,2 ± 4,0
Sangalkam	17	213,6	5,8	0,50	+ 4,17 + 0,038 x	0,017	12,3 ± 4,6

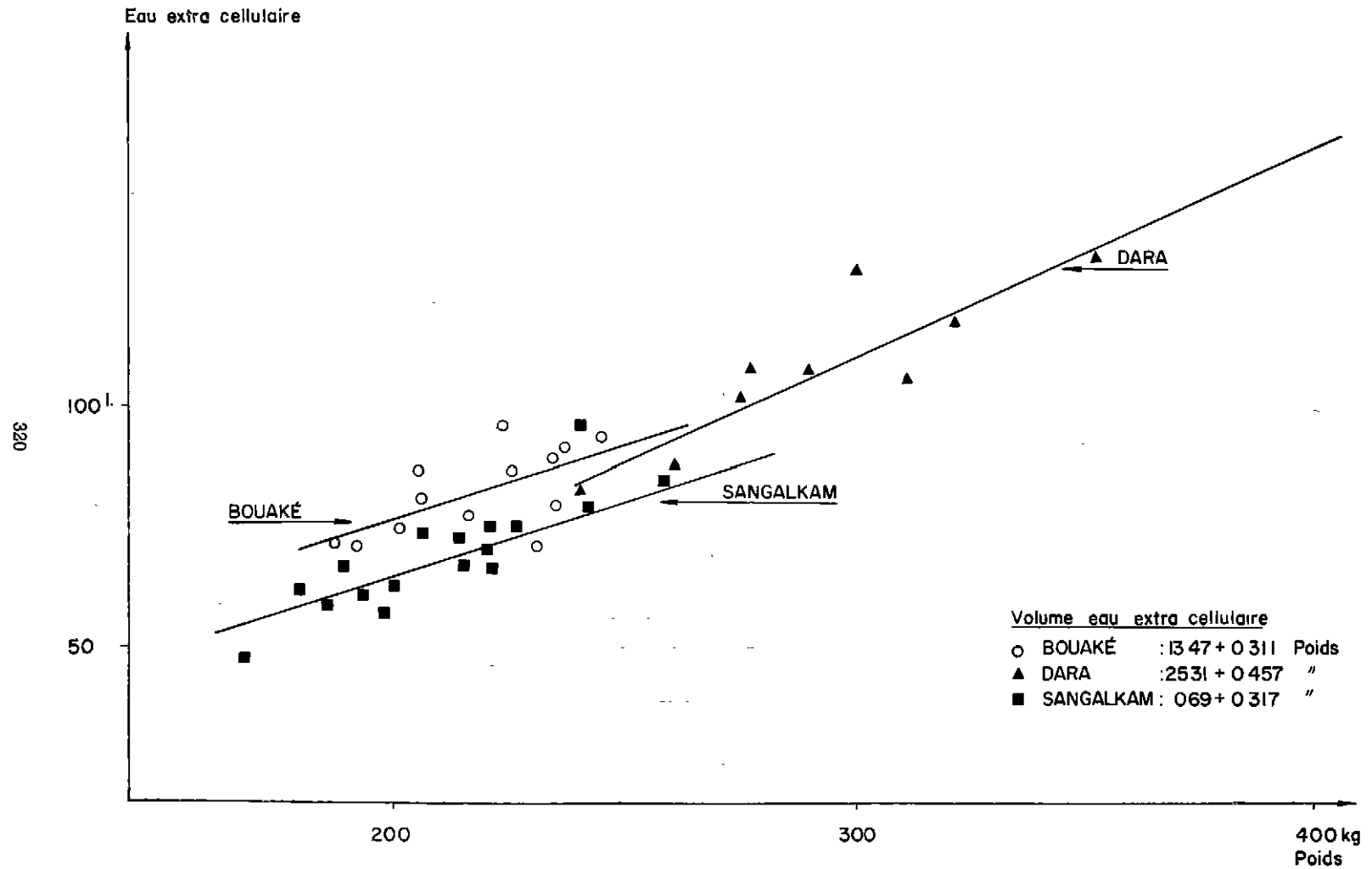
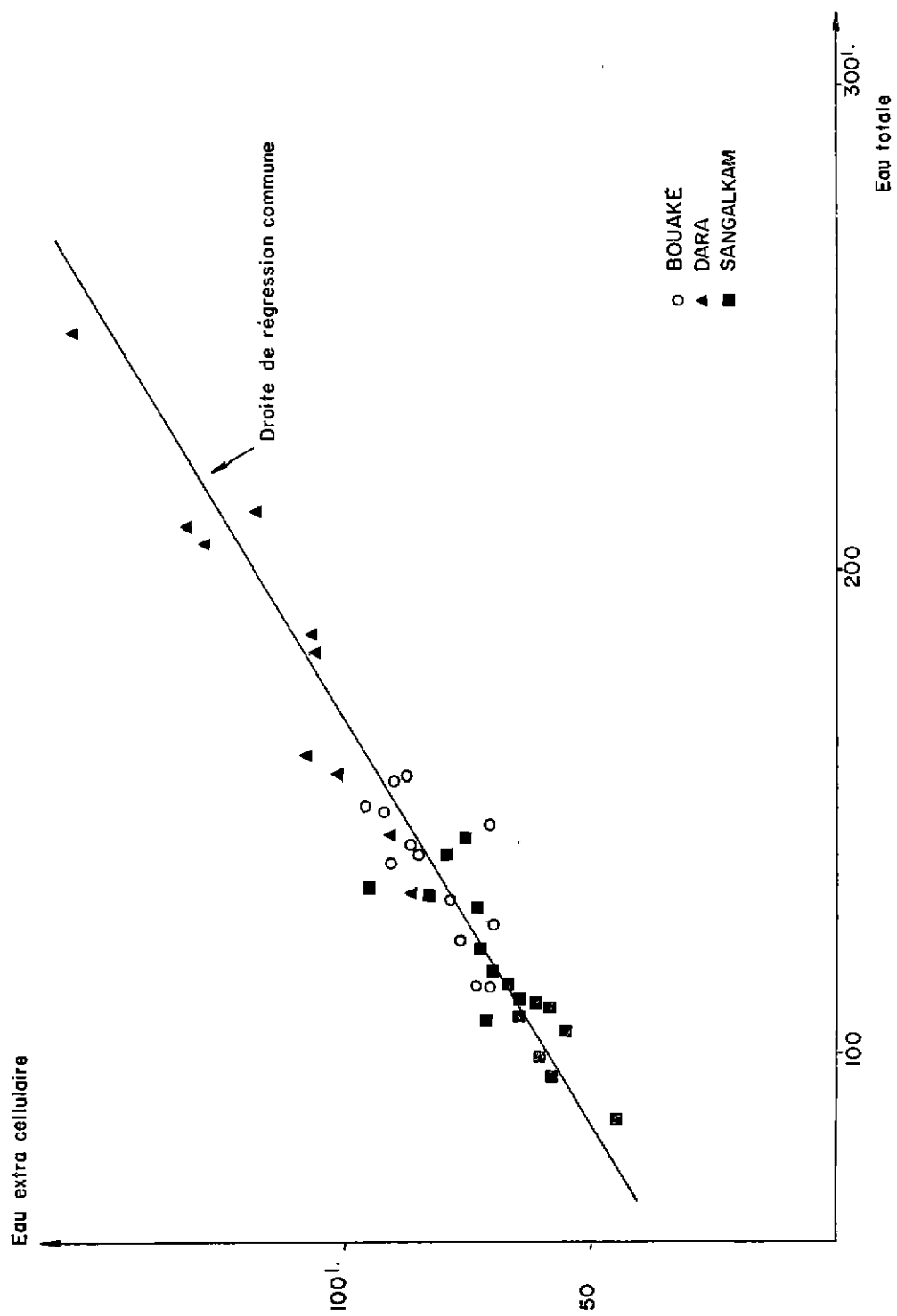


TABLEAU N°II
 Comparaison des compartiments liquidiens au volume moyen de l'eau totale

	Nombre	Volume moyen eau totale	Pourcentage du volume	Coefficient de corrélacion	Equation ($x' = \text{volume eau totale}$) $y' - \bar{y}' = b' (x' - \bar{x}')$	Ecart type de b'	Moyenne et limite de confiance à 95 p. 100
Volume eau extra- cellulaire							
Bouaké	13	138,3	58,7	0,64	$26,6 + 0,395 x'$	0,072	$81,2 \pm 16,8$
Dara	10	183,9	60,8	0,95	$0,7 + 0,605 x'$	0,145	$111,9 \pm 18,3$
Sangalkam	17	115,0	59,5	0,84	$4,7 + 0,554 x'$	0,092	$68,4 \pm 14,3$
Volume eau intra- cellulaire							
Bouaké	13	138,3	41,3	0,78	$26,4 + 0,604 x'$	0,072	$57,1 \pm 16,8$
Dara	10	183,9	39,2	0,89	$0,6 + 0,395 x'$	0,145	$72,0 \pm 18,3$
Sangalkam	17	115,0	40,5	0,78	$-4,7 + 0,441 x'$	0,092	$46,6 \pm 14,3$
Volume eau plasmatiche							
Bouaké	13	138,3	5,9	0,55	$1,3 + 0,050 x'$	0,026	$8,2 \pm 3,1$
Dara	10	183,9	4,5	0,67	$3,4 + 0,026 x'$	0,010	$8,2 \pm 2,7$
Sangalkam	17	115,0	6,1	0,54	$3,2 + 0,033 x'$	0,013	$7,0 \pm 2,1$
Volume sanguin							
Bouaké	13	138,3	10,0	0,54	$3,2 + 0,077 x'$	0,025	$13,8 \pm 5,1$
Dara	10	183,9	8,3	0,67	$6,0 + 0,050 x'$	0,011	$15,2 \pm 5,0$
Sangalkam	17	115,0	10,7	0,49	$4,9 + 0,064 x'$	0,029	$12,3 \pm 4,6$



Les droites de régression passant pratiquement par l'origine pour l'eau extracellulaire et l'eau intracellulaire, on peut dire que l'eau extracellulaire représente environ 60 p. 100 de l'eau totale et l'eau intracellulaire 40 p. 100. Ces résultats ne sont bien entendu valables que pour le sulfocyanure de sodium, car la diffusion des substances traceuses se heurte à des barrières physiques ou chimiques qui varient pour chacune d'elles.

CONCLUSIONS

Une méthode de détermination simultanée de l'eau totale, de l'eau extracellulaire, du volume plasmatique et du volume sanguin chez les bovins au moyen de traceurs chimiques : antipyrine, sulfocyanure de sodium, bleu de Evans, est décrite. Elle a été appliquée sur des mâles de trois troupeaux ouest-africains de 3 à 4 ans : 10 zébus gobra de Dara (Sénégal) en zone nord-soudanienne (15° 32' W-15° 20' N), 17 métis zébu x taurin (Djokhé) à prédominance taurin Ndama de Sangalkam (Sénégal) en zone sub-

canarienne sud (17° 13' W-14° 46' N) et 13 taurins Ndama de Bouaké (Côte-d'Ivoire) en climat équatorial (zone Baouléenne) (4° 58' N-5° 08' N). On rapporte les espaces mesurés au poids des animaux : l'eau totale, l'eau extracellulaire, l'eau intracellulaire du troupeau de Ndama sont significativement supérieurs à ceux du troupeau de métis. Le troupeau de Ndama diffère aussi des zébus et métis par un volume plasmatique significativement plus élevé. Si on rapporte les volumes trouvés à celui de l'eau totale, toutes les différences disparaissent et on peut donner les équations générales de régression des divers compartiments par rapport à l'eau totale. Il n'y a pas de différence dans la répartition de l'eau dans les compartiments suivant les climats ou les races. Les différences notées sont liées à l'état d'engraissement des animaux.

Institut d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux. Maisons-Alfort.

Laboratoire national de l'Elevage et de Recherches vétérinaires. Dakar-Hann.

SUMMARY

Measure of body fluids spaces in West-African cattle. Methods and results

Total water, extracellular water, plasma volume and blood volume have been measured in male cattle from 3 to 4 years from three West African herds using a method of simultaneous determination by chemical tracers (antipyrine sodium sulfocyanide, Evans blue).

Animals which have been tested are 10 Gobra zébus from Dahra in Northern Soudanian area, 17 zebutaurine metis (Djokhé) in which N'Dama taurine blood is predominant, from Sangalkam in South sub Canarian area, 13 N'Dama taurine from Bouaké in equatorial climate (baouléan area). The fluids spaces measured have been compared to the weight of the animals : total water, extracellular water, intracellular water are significantly bigger in N'Dama than in Metis, as well as the plasma volume. If the volumes measured are related to the volume of the total water there is no more difference between them and it is possible to establish the general equations of regression of the various spaces in relation to total water. There is no difference in the distribution of the water in the spaces according to the climate and the breed. The differences which have been recorded are related with the fattening state of the animals.

RESUMEN

Medida de los contenidos líquidos del cuerpo en cebúes del Oeste de Africa. Método y resultados

Se medieron el agua total, el agua extracelular, el volumen del plasma y el volumen de la sangre en los machos de 3 o 4 años de edad de tres manadas

del Oeste-africano mediante un método de determinación simultánea con trazadores químicos (antipyrina, sulfocianuro de sodio, azul Evans). Los animales experimentados son 10 cebúes Gobra de Dara en la zona norte-sudanesa, 17 mestizos cebú-taurino (Djokhere), con predominancia del taurino N'Dama de Sangalkam en el sur de la zona sub-canariana ; 13 taurinos N'Dama de Bouake bajo clima ecuatorial (zona bauleana). Se comparan los espacios líquidos medidos con los pesos de los animales : el agua total el agua extracelular, el agua intracelular así que el volumen del plasma de los N'Damas son significativamente superiores a los de los mestizos. Si se comparan los volúmenes medidos al del agua total, ya no hay diferencias entre ellos y se puede dar las ecuaciones generales de regresión de los varios espacios líquidos en relación con el agua total. La diferencia de la repartición del agua en los espacios es independiente de los climas y de las razas. Las diferencias notadas están ligadas con el estado de engorde de los animales.

BIBLIOGRAPHIE

1. ANDERSEN (S. B.), 1962. — Déterminations simultanées du volume plasmatique par l'albumine marquée à ^{131}I , l'albumoglobuline marquée à ^{131}I et le colorant T 1824 (Simultaneous determinations of plasma volume with ^{131}I labelled albumin, ^{131}I labelled albumin and T 1824). *Clin. Sci.*, 1962, 23 : 221-28.
2. BANERJEE (S.) et BHATTACHARJEE (R. C.). — Distribution de l'eau corporelle du chameau (Distribution of body water in the camel, *camelus dromedarius*). *Amer. Journ. Physiol.*, 1963, 204 (6) : 1045-47.
3. BERNICK (S.), HYMAN (C.) et PALDINO (R. L.). — Etudes histologiques sur l'influence du Thorotrast sur la distribution intrahépatique de T. 1824 (Histological studies on the influence of thorotrast on the intrahepatic distribution of T. 1824). *Am. Jour. Physiol.*, 1955, 182 (2) : 232-36.
4. BLAXTER (K. L.) et ROOK (A. F.). — Détermination indirecte de la rétention énergétique chez les animaux de ferme. I — Exposé de la méthode (The indirect determination of energy retention in farm animals. I — The development of method). *J. Agr. Sci.*, 1956, 48 : 194-209.
5. BRODIE (B. B.), AXELROD (J.), SOBERMAN (R.) et LEVY (R. B.). — Dosage de l'antipyrine dans les produits biologiques (Estimation of antipyrin in biological materials). *J. Biol. Chem.*, 1949, 179 : 25-30.
6. CACHERA (R.) et BARBIER (P.), 1941 a. — Etude de la diffusion dans l'organisme humain des solutions de rhodanate de sodium introduites par voie veineuse. *C. R. Soc. Biol.*, 1949, 135 : 1172-75.
7. CACHERA (R.) et BARBIER (P.), 1941 b. — L'épreuve au rhodanate de sodium méthode de mesure des liquides interstitiels. *C. R. Soc. Biol.*, 1949, 135 : 1175-79.
8. CACHERA (R.) et BARBIER (P.), 1942. — L'épreuve jumelée au rhodanate de sodium et au bleu de Chicago. *Paris med.*, 1942, 32 : 29.
9. CACHERA (R.) et LAMOTTE (M.), 1950. — La détermination du volume des liquides extracellulaires par la méthode au thiocyanate de sodium. *Sem. Hôp. Paris*, 1950, 500.
10. CHINARD (F. P.) et EDER (H. A.), 1948. — Détermination de la concentration du T. 1824 dans les plasmas normaux et lipémiques (The determination of the concentration of the dye T. 1824 in normal and lipaemic plasmas). *J. exp. med.*, 1948, 87 : 473-87.
11. COTLOVE (E.). — Mécanisme et implications de la distribution de l'inuline et du saccharose dans l'espace chloré des tissus (Mechanism and extent of distribution of inulin and sucrose in chloride space of tissue). *Amer. J. Physiol.*, 1954, 176 : 396-410.
12. CRANDALL (L. A.) et ANDERSON (M. X.). — Estimation de l'état d'hydratation du corps par la quantité d'eau disponible pour la dissolution du thiocyanate de sodium (Estimation of the state of hydration of the body by the amount of water available

- for the solution of sodium thiocyanate). *Amer. J. Digest. Dis. and Nutrition*, 1934, 1 : 126-31.
13. CRISPELL (KR.), PORTER (B.) et NIESET (RT.). — Etude du volume plasmatique par l'emploi d'albumine sérique humaine marquée à l'iode radioactif 131 (Studies of plasma volume using human serum albumin tagged with radioactive iodine 131). *J. Clin. Invest.*, 1950, 29 : 513-16.
 14. DALTON (RG.). — Détermination de l'eau corporelle des veaux par l'urée (Measurement of body water in calves with urea). *Br. Vet. Journ.*, 1964, 120 : 378-84.
 15. DUMONT (B.). — Sur le dosage de l'antipyrine dans le plasma sanguin. *Ann. Zootechn.*, 1955, 4 : 285-296.
 16. FOWLER (R. Jr.). — Une phase lente inattendue dans l'équilibre de l'eau corporelle (An unexpected slow phase in the equilibrium of body water). *Austral. Ann. Med.*, 1955, 4 (2) : 128-34.
 17. GARRET (WN.), MEYER (J. H.) et LOFGREEN (GP.). — Valeur de la technique de dilution pour la détermination de l'eau totale chez les ruminants (An evaluation of the dilution technique for the determination of total body water in ruminants). *Jour. Anim. Sci.*, 1959, 18 (1) : 116-26.
 18. GREGERSEN (M. I.) et RAWSON (RA.). — Disparition du courant sanguin du T. 1824 et des colorants de structure analogue (The disappearance of T. 1824 and structurally related dyes from the blood stream). *Amer. J. Physiol.*, 1943, 138 : 698-703.
 19. GREGERSEN (M. I.). — Volume sanguin (Blood volum). *Ann. Rev. Physiol.*, 1951, 13 : 397.
 20. GREVE (DM.) et HAMILTON (LH.). — Rôle du SRE dans l'allure de la disparition du T. 1824 du plasma circulant (The role of SRE in the disappearance of Evans blue dye (T. 1824) from circulating plasma). *Canadian Jour. Biochem. and Physiol.*, 1957, 35 (8) : 625-30.
 21. HAXHE (J. J.). — Mesure des compartiments corporels — méthodes et résultats. *Jour. Physiol. Paris*, 1964, 56 : 7-109.
 22. HIX (E. L.), UNDERBERG (GKL) et HUGUES (J. S.). — Liquides corporels des ruminants — Détermination simultanée (The body fluids of ruminants — Simultaneous determination). *Amer. J. Vet. Res.*, 1959, 20 : 184-91.
 23. HODGETTS (V. E.). — Influence de la centrifugation sur les valeurs de l'hématocrite et les facteurs de correction pour le plasma retenu du sang de mouton (The influence of centrifugation treatment upon hematocrit values and the trapped plasma correction factor of sheep blood). *Aust. Exp. Biol. Med. Sci.*, 1959, 37 : 97.
 24. HOWES (JR.), HENTGES (JF.) et FEASTER (SP.). — Volume sanguin des troupeaux Brahmane et Hereford mesuré par injection de sérum-albumine bovine marquée au radio-iode (Blood volume of Brahman and Hereford cattle as measured by injected radioiodinated bovine serum albumine). *J. Animal. Sci.*, 1963, 22, 183-87.
 25. HUBERT (H.). — Afrique Occidentale Française in Atlas de Colonies Françaises, Protectorats et Territoires sous mandat de la France — Paris — Société d'Éditions, 1934.
 26. HUCKABEE (W. E.). — Emploi de 4-aminoantipyrine pour la détermination du volume d'eau corporelle disponible par la dilution de solutions (Use of 4-aminoantipyrine for determining volume of body water available for solute dilution). *Jour. Appl. Physiol.*, 1956, 9 (2) : 157-162.
 27. HUGGINS (RA.), SMITH (EL.) et DEEVERS (S.). — Volume de distribution du Bleu Evans et de l'albumine iodée chez le chien (Volume distribution of Evans blue dye and iodinated albumin in dogs). *Amer. Jour. Physiol.*, 1963, 205 (2) : 351-56.
 28. INKLET (JR.), BROOKS (L.) et KRIEGER (H.). — Etude des méthodes d'évaluation du volume plasmatique (A study of the methods for the prediction of plasma volume). *J. Lab. Clin. Med.*, 1955, 45 : 841-50.
 29. KEYS (A.) et BROZEK (J.). — Graisses corporelles chez l'homme adulte (Body fat in adult man). *Physiol. Rev.*, 1953, 33 : 245.
 30. KRAYBILL (HF.), HANKINS (OC.) et BITTER (HL.). — Composition corporelle du bétail II — Détermination de la graisse et de l'eau corporelle par la mesure du poids spécifique corporel (Body composition of cattle II Détermination of fat and water content from measurement of body specific gravity). *J. Appl. Physiol.*, 1952, 4 : 575-583.

31. MARSHALL (EK.) et DAVIS (DM.). — L'urée. Sa distribution corporelle et son élimination (Urea. Its distribution in and its elimination from the body). *J. Biol. Chem.*, 1914, **18** : 53.
32. MATHE (G.). — L'hydratation cellulaire. Étude de certains problèmes concernant la physiologie et la pathologie. Thèse médecine Paris, 1952.
33. MAYERSON (HS.), LYONS (C.), PARSON (W.), NIESET (RT.) et TRAUTMAN (W. V.). — Comparaison des résultats des mesures du volume des globules rouges sanguins par les techniques directes et indirectes (Comparison of results of measurement of red blood cells volume by direct and indirect techniques). *Amer. J. Physiol.*, 1948, **155** : 222.
34. MOORE (F. D.), OLESEN (KH.), Mc MURREY (JD.), PARKER (H. U.), BALL (MR.) et BOYDEN (CM.). — Masse cellulaire corporelle et son environnement. Composition corporelle dans la santé et la maladie (The body cell mass and its supporting environment. Body composition in health and disease). SAUNDERS, Philadelphia. 535 pp.
35. MORICE (E.) et CHARTIER (F.). — Méthode statistique — I Elaboration des statistiques — 187 p. II Analyse statistique 555 p. — Paris. — Imprimerie Nationale, 1954.
36. NACHMAN (HM.), JAMES (GW.), MOORE (JW.) et EVANS (EI.). — Étude comparative du volume des globules rouges chez les sujets humains par les cellules marquées au phosphore radioactif et le colorant T. 1824 (Comparative study of red cells volumes in human subjects with radioactif phosphorus tagged cells and T. 1824 dye). *J. Clin. Invest.*, 1950, **29** : 258.
37. OVERMAN (RR.). — Altérations de la perméabilité par la maladie (Permeability alterations in disease). *J. Lab. Clin. Med.*, 1946, **31** : 1170.
38. PACE (N.) et RATHBUN (EN.). — Études sur la composition corporelle. III L'eau corporelle et l'azote cliniquement combiné, en relation avec le montant des graisses (Studies body composition. III the body water and chemically combined nitrogen content in relation to fat content). *J. Biol. Chem.*, 1945, **158** : 685-91.
39. PAWAN (GLS.) et HOULT (HW.). — Détermination de l'eau totale corporelle chez l'homme par dilution de l'éthanol (Determination of total body water in man by ethanol dilution). *Biochem. J.*, 1963, **87** : 6-7 P.
40. POUILLAIN (P.) et PIETTE (M.). — Détermination de la masse sanguine par la polyvinylpyrrolidone. *Bull. Soc. chim. biol.*, 1948, **30** : 496-500.
41. RAWSON (RA.). — La liaison de T. 1824 et des colorants diazo analogues avec les protéines plasmatiques (The binding of T. 1824 and structurally related diazodyes by the plasma proteins). *Amer. J. Physiol.*, 1943, **138** : 708-17.
42. REID (JT.), BALCH (CC.), MEAD (MJ.) et STROUD (JW.). — Emploi de l'antipyrine et de la N-acétyl A aminoantipyrine dans la mesure de l'eau totale corporelle et de l'eau de la lumière du tractus gastrointestinal chez le bétail vivant (Use of antipyrine and N acetyl 4 aminoantipyrine in the measurement of body water and the intraluminal water of the gastrointestinal tract of living cattle). *Nature*, London, 1957, 179-1034.
43. SEMPLE (RE.). — Méthode de détermination du volume plasmatique des animaux par le dextran (Method for determining plasma volume of animals by dextran). *Fed. Proc.*, 1956, **15** : 167-68.
44. SNEDECOR (GW.). — Méthodes statistiques appliquées à l'expérimentation en agriculture et en biologie (Statistical methods applied to experiments in agriculture and biology). 5th edition. The Iowa States University Press. Ames. IOWA-USA, 534 pp., 1956.
45. SOBERMAN (RJ.), BRODIE (BB.), LEVY (BB.), AXELROD (J.), HOLLANDER (U.) et STEELE (J. M.). — Emploi de l'antipyrine dans la mesure de l'eau totale chez l'homme (The use of antipyrin in the measurement of total body water in man). *J. Biol. Chem.*, 1949, **179** : 31-41.
46. SOBERMAN (RJ.). — Emploi de l'antipyrine dans la mesure de l'eau totale chez les animaux (Use of antipyrin in measurement of total body water in animals). *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 1950, **74** : 840.
47. TALSO (P. J.), LAHR (T. N.), STAFFORD (N.), FERENZI (G.) et JACKSON (HRO.). — Comparaison du volume de distribution de

- l'antipyrine, l'N acétyl 4 aminoantipyrine et de la 4 iodoantipyrine marquée à ^{131}I chez les êtres humains (A comparison of the volume of distribution of antipyrine, N acetyl 4 aminoantipyrine and ^{131}I labelled 4 iodoantipyrine in human being). *J. Lab. Clin. Med.*, 1955, 46 : 619-23.
48. TILL (AR.) et DOWNES (AM.). — Mesure de l'eau totale corporelle chez le mouton (The measurement of total body water in sheep). *Austr. J. Agric. Res.*, 1962, 13 : 335-42.
49. TURNER (CW.) et HERMAN (HA.). — *Missouri Univ. Agr. Expt. Sta. Res. Bull.*, 1931, n° 159.
50. WELLINGTON (GH.) et REID (JT.). — L'antipyrine dans l'étude du bétail (Antipyrine in cattle study). *J. anim. Sci.*, 1956, 15 : 76.